

**NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK SALEP KOMBINASI EKSTRAK DAUN BANGUN-BANGUN  
(*Coleus amboinicus* L.) DAN EKSTRAK HERBA PEGAGAN  
(*Centella asiatica* (L.) Urban) TERHADAP PENYEMBUHAN  
LUKA EKSISI PADA TIKUS HIPERGLIKEMIA  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



**EDI KURNAWAN  
NIM 1111 10 013**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA  
PONTIANAK  
2014**

**LEMBAR PENGESAHAN  
NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK SALEP KOMBINASI EKSTRAK DAUN BANGUN-BANGUN  
(*Coleus amboinicus* L.) DAN EKSTRAK HERBA PEGAGAN  
(*Centella asiatica* (L.) Urban) TERHADAP PENYEMBUHAN  
LUKA EKSISI PADA TIKUS HIPERGLIKEMIA  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**Tanggungjawab Yuridis Material pada**

**EDI KURNAWAN  
NIM I 11110013**

**Disetujui oleh**

**Pembimbing Pertama**



**Siti Nani Nurbaeti, M.Si., Apt.  
NIP. 19841130 200812 2 004**

**Pembimbing Kedua**



**dr. Virhan Novianry, M.Biomed  
NIP. 19821129 200801 1 006**

**Penguji Pertama**



**dr. Pandu Indra Bangsawan, M.Kes  
NIP. 19821126 201212 1 002**

**Penguji Kedua**



**dr. Syarifah Nurul Yanti R.S.A  
NIP. 19860211 201212 2003**

**Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Tanjungpura**



**dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD  
NIP. 19511218 197811 1 001**

**EFEK SALEP KOMBINASI EKSTRAK DAUN BANGUN-BANGUN  
(*Coleus amboinicus* L.) DAN EKSTRAK HERBA PEGAGAN  
(*Centella asiatica* (L.) Urban) TERHADAP PENYEMBUHAN  
LUKA EKSISI PADA TIKUS HIPERGLIKEMIA  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Edi Kurnawan<sup>1</sup>, Siti Nani Nurbaeti<sup>2</sup>, Virhan Novianry<sup>3</sup>

**Abstrak**

**Latar Belakang:** tujuan penyembuhan ulkus diabetes adalah untuk mempercepat proses penutupan luka dengan menstimulasi faktor-faktor pertumbuhan. Kandungan senyawa aktif daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) diketahui memiliki aktivitas penyembuhan luka yang baik. **Tujuan:** mengetahui efektivitas sediaan salep kombinasi ekstrak dibandingkan dengan salep ekstrak tunggal dan salep komersil melalui pengamatan penyembuhan luka. **Metode:** penelitian eksperimental Rancang Acak Lengkap (RAL) dengan *posttest only group design*. Sebanyak 25 ekor tikus dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, yaitu kontrol positif (salep komersil Sanoskin Melladerm Plus<sup>®</sup>), kontrol negatif (salep plasebo), dosis I (salep pegagan 1,5%), dosis II (salep bangun-bangun 5%), dan dosis III (salep kombinasi pegagan 1,5% dan bangun-bangun 5%). Tikus diinduksi hiperglikemia dengan aloksan monohidrat sebelum pemberian perlakuan. Pengamatan luka dilakukan selama 7 hari dan dinyatakan dengan persentase penyembuhan luka (%). Data dianalisis menggunakan uji *One-way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc LSD*. **Hasil:** Hasil analisa uji efektivitas salep menunjukkan perbedaan bermakna rerata persentase penyembuhan luka pada hari ke-7 antara kontrol negatif dengan kelompok dosis I, II dan III ( $p < 0,05$ ). Rerata persentase penyembuhan luka pada kelompok dosis I lebih tinggi dibanding kelompok dosis III ( $p = 0,033$ ). **Kesimpulan:** salep pegagan 1,5% memberikan efek penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan salep kombinasi pegagan 1,5% dan bangun-bangun 5% dan kelompok perlakuan lainnya.

**Kata kunci:** *Centella asiatica* (L.) Urban, *Coleus amboinicus* L., penyembuhan luka, salep kombinasi ekstrak, tikus hiperglikemia

---

<sup>1)</sup> Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

<sup>2)</sup> Departemen Teknologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

<sup>3)</sup> Departemen Biokimia, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

# **EFFECT OF COMBINED COLEUS AMBOINICUS L. AND CENTELLA ASIATICA (L.) URBAN EXTRACT OINTMENT ON EXCISIONAL WOUND HEALING IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC RATS**

Edi Kurnawan<sup>1</sup>, Siti Nani Nurbaet<sup>2</sup>, Virhan Novianry<sup>3</sup>

## **Abstract**

**Background:** the aim of diabetic ulcer healing is to promote rapid wound closure by stimulating the growth factors. Phytochemical constituents of *Coleus amboinicus* L. leaf and *Centella asiatica* (L.) Urban. has shown wound healing activity. **Objective:** to investigate the effectiveness of combination extract ointment compared between single extract ointment and commercial ointment through wound healing observation. **Method:** laboratory experimental study with completely randomized posttest only group design. Twenty five wistar rats was randomly divided into 5 groups, positive control (Sanoskin Melladerm Plus<sup>®</sup>), negative control (plasebo ointment), doses I (*C. asiatica* (L.) Urban ointment 1,5%), doses II (*C. amboinicus* L. ointment 5%), and doses III (combination ointment of *C. asiatica* (L.) Urban 1,5% dan *C. amboinicus* L. 5%). Animal models were induced by alloxan until hyperglycemia. Wound was observed for 7 days and was expressed by percentage of wound healing (%). The resulting data was analyzed using SPSS version 20. Significance was assessed by using the one-way ANOVA followed by LSD Post Hoc. **Result:** Statistical analysis showed significant difference of average wound healing percentage between negative control against positive control, doses I, doses II, doses III ( $p < 0,05$ ) at day 7<sup>th</sup>. Average wound healing percentage of doses I was higher than doses III ( $p = 0,033$ ). **Conclusion:** *C. asiatica* (L.) Urban ointment 1,5% shown more effective compared with combination ointment in excision wound healing of diabetic rat models.

**Keywords:** *Centella asiatica* (L.) Urban, *Coleus amboinicus* L., wound healing, combination ointment, hyperglycemia rats.

- 
- <sup>1)</sup> Medical School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura, Pontianak, West Borneo
  - <sup>2)</sup> Technology of Pharmacy Department, Pharmacy School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura, Pontianak, West Borneo
  - <sup>3)</sup> Biochemical Departement, Medical School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Borneo

## PENDAHULUAN

Penderita diabetes melitus (DM) terus meningkat seiring dengan meningkatnya tingkat kemakmuran dan berubahnya gaya hidup.<sup>1</sup> Estimasi prevalensi penderita diabetes di dunia pada usia 20-79 tahun mencapai 6,4% pada tahun 2010 dan akan meningkat menjadi 7,7% pada tahun 2030.<sup>2</sup> *International Diabetes Federation* (IDF) memprediksikan kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 7,0 juta pada tahun 2010 menjadi 12,0 juta pada tahun 2030. Hal ini menempatkan Indonesia menjadi empat besar dunia penderita DM terbanyak setelah India, China dan Amerika Serikat.<sup>2,3</sup> Prevalensi DM terbesar di daerah urban Indonesia terdapat di provinsi Maluku Utara dan Kalimantan Barat yang mencapai 11,1%.<sup>4</sup>

Diabetes melitus dapat menyebabkan berbagai macam komplikasi, salah satunya adalah ulkus diabetes. Ulkus diabetes merupakan luka terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan adanya makroangiopati, sehingga terjadi insufisiensi vaskuler dan neuropati.<sup>5</sup> Luka pada penderita DM merupakan luka yang penyembuhannya tertunda dan dapat bertahan lama.<sup>6,7</sup> Proses penyembuhan yang tertunda dapat menyebabkan resiko terjadinya infeksi menjadi lebih besar, sehingga menyebabkan luka pada penderita DM berkembang menjadi gangren dan resiko amputasi menjadi lebih besar.<sup>8</sup>

Ulkus kaki, infeksi dan gangren telah menjadi penyebab utama perawatan pasien DM di rumah sakit. Hampir 15% - 20% dari 16,0 juta penderita DM di Amerika Serikat menjalani perawatan di rumah sakit akibat komplikasi ulkus kaki diabetes dan sekitar 7% - 20% pasien ulkus kaki diabetes harus menjalani amputasi.<sup>9</sup> Prevalensi penderita ulkus kaki diabetes di Indonesia sekitar 15% dengan angka amputasi mencapai 30% dan angka mortalitas 32%. Ulkus kaki diabetes dan amputasi mempengaruhi kualitas hidup serta menimbulkan beban ekonomi bagi pasien karena lamanya waktu perawatan dan tingginya biaya yang diperlukan untuk pengobatan.<sup>5</sup>

Terapi ulkus kaki diabetes dengan obat sintesis masih belum sesuai dengan yang diharapkan. Obat sintesis yang biasa digunakan secara topikal adalah antiseptik dan antibiotik yang hanya mengatasi masalah infeksi,<sup>8</sup> sedangkan pengobatan terbaru saat ini untuk luka diabetes masih tergolong mahal. Oleh sebab itu, diperlukan alternatif pengobatan yang bisa memberikan efek terapeutik yang sama namun dengan biaya yang lebih terjangkau. Saat ini banyak dilakukan penelitian terhadap obat herbal yang dapat digunakan untuk penyembuhan luka. Terdapat kurang lebih 163 spesies tumbuhan yang digunakan sebagai pengobatan dalam penyembuhan luka.<sup>10</sup> Beberapa penelitian tanaman herbal untuk penyembuhan luka yang telah dilakukan memperlihatkan hasil yang memuaskan, seperti daun bangun-bangun, dan herba pegagan.<sup>11,12</sup>

Hasil analisis fitokimia memperlihatkan daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) mengandung senyawa polifenol, saponin, glikosida flavonol dan kandungan minyak atsiri yang cukup tinggi. Senyawa flavonol, saponin dan minyak atsiri bekerja sebagai antimikroba.<sup>13</sup> Daun Bangun-bangun banyak digunakan dalam pengobatan gangguan kulit terutama proses penyembuhan luka biasa maupun luka bakar.<sup>14</sup> Senyawa antioksidan seperti flavonoid, kuersetin, tanin, dan polifenol diduga berperan dalam proses penyembuhan luka.<sup>11</sup>

Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) telah diteliti mempunyai aktivitas terhadap penyembuhan luka yang baik. Aktivitas tersebut terjadi melalui beberapa cara seperti menstimulasi sintesis kolagen, meningkatkan sekresi kolagen, dan merangsang proliferasi fibroblas.<sup>15</sup> Selain itu, herba Pegagan juga mempunyai aktivitas *antiulcer*,<sup>16</sup> aktivitas antibakteri dan antioksidan.<sup>12</sup> Herba Pegagan mengandung senyawa aktif asiatikosida yang berfungsi memproduksi kolagen sehingga mempercepat proses penyembuhan luka pada bagian permukaan kulit manusia.<sup>12</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) dan ekstrak herba Pegagan

(*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus hiperglikemia yang diformulasikan dalam sediaan salep. Salep dipilih sebagai sediaan topikal karena merupakan salah satu bentuk sediaan semi padat yang banyak digunakan dalam pengobatan kulit dan merupakan pembawa obat topikal yang baik. Berdasarkan kandungan kimia dari masing-masing ekstrak daun bangun-bangun dan ekstrak herba Pegagan yang kemudian dikombinasikan dalam formula salep diharapkan memberikan efek farmakologis sinergis sehingga dapat menyembuhkan luka dengan cepat dan lebih baik.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan, *blender* (*National*<sup>®</sup>), timbangan analitik (*Ohaus*<sup>®</sup>), bejana maserasi, batang pengaduk kaca, *oven* (*Memmert*<sup>®</sup>), *rotary evaporator* (*Eyela*<sup>®</sup>), beaker (*Pyrex*<sup>®</sup>), tabung reaksi (*Pyrex*<sup>®</sup>), labu erlenmeyer (*Pyrex*<sup>®</sup>), gelas ukur (*Pyrex*<sup>®</sup>), penangas air (*Memmert*<sup>®</sup>), gelas krusibel, cawan penguap, desikator, toples, termometer, mortir, stamper, kertas perkamen, kertas saring, pot salep, corong kaca, sudip, *minor set* (*Renz*<sup>®</sup>), jangka sorong (*Vernier Caliper*<sup>®</sup>), jarum suntik, spuit, glukometer (*EasyTouch*<sup>®</sup>).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain aquades, etanol 70%, n-heksana, HCl pekat p.a (*Merck*<sup>®</sup>), serbuk Mg, FeCl 3% p.a (*Merck*<sup>®</sup>), asam asetat glasial p.a (*Merck*<sup>®</sup>), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat p.a (*Merck*<sup>®</sup>), reagen Mayer, reagen Molisch, kloroform, ekstrak herba Pegagan, ekstrak daun Bangun-bangun, pakan tikus standar, air minum, cera alba, vaselin, BHT, metil paraben, propil paraben, aloksan monohidrat (*Sigma-aldrich*<sup>®</sup>), strip glukometer (*EasyTouch*<sup>®</sup>), NaCl (0,9%), parafin cair, dan salep Sanoskin Melladerm Plus<sup>®</sup>.

## Hewan Uji

Hewan yang digunakan pada penelitian ini tikus putih berkelamin jantan galur wistar dengan berat badan 150-250 gram usia 8-12 minggu. Hewan uji diaklimasi terlebih dahulu selama 14 hari di lingkungan laboratorium.

## Preparasi Sampel

Sampel dalam penelitian ini terdiri dari daun *Coleus amboinicus* L. yang diambil dari perkebunan di Jalan Adi Sucipto, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya. Sedangkan tanaman *Centella asiatica* (L.) Urban didapat dari perkebunan sayur Kelurahan Sungai Duri, Kabupaten Bengkayang. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura, Pontianak Kalimantan Barat. Sampel dikering haluskan dan disimpan dalam wadah kaca kedap udara.

## Ekstraksi Sampel

Sampel diekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 1000 gram simplisia herba pegagan dimaserasi dalam etanol 70% dan simplisia daun bangun-bangun sebanyak 650 gram dimaserasi dalam pelarut n-heksana hingga simplisia terendam dalam pelarut selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring hingga diperoleh filtrat dan ampas. Ampas dimaserasi lagi menggunakan pelarut yang sama pada suhu ruangan selama 24 jam. Proses ini dilakukan setiap 1x24 jam selama 5 hari atau hingga pelarut berwarna bening. Maserat dikumpulkan dan kemudian dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan *waterbath* sehingga diperoleh masing-masing ekstrak kental.<sup>17,18,19,20</sup>

## Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder pada sampel yang meliputi pemeriksaan triterpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan minyak atsiri.<sup>21,22</sup>



## Formulasi Salep

Pembuatan salep dibuat dengan formulasi seperti tabel 1 berikut:<sup>12</sup>

Tabel 1. Formulasi Salep

No	Nama Bahan	F0 (g)	F1 (g)	F2 (g)	F3 (g)
1.	Ekstrak pegagan	-	1,5 %	-	1,5 %
2.	Ekstrak bangun-bangun	-	-	5 %	5 %
3.	Metil paraben	0,15	0,15	0,15	0,15
4.	Propil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02
5.	Butilhidroktoluene (BHT)	0,01	0,01	0,01	0,01
6.	Cera Alba	4,75	4,75	4,75	4,75
7.	Vaselin putih	90,07	90,07	90,07	90,07

Keterangan: F0=salep plasebo tanpa bahan aktif, F1=salep pegagan 1,5%, F2=salep bangun-bangun 5%, F3=salep kombinasi pegagan 1,5% dan bangun-bangun 5%

Pembuatan salep diawali dengan menimbang bahan-bahan yang diperlukan. Cera alba dilelehkan diatas penangas air, vaselin putih ditambahkan, diaduk sampai homogen dan dingin. BHT yang telah dilarutkan dengan etanol dimasukkan kedalam basis salep digerus homogen. Metil paraben dan propil paraben yang telah dilarutkan dengan etanol dicampurkan dengan ekstrak. Setelah basis jadi, maka ditambahkan ekstrak kental pegagan dan bangun-bangun ke dalam basis sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai homogen sejumlah konsentrasi yang diinginkan dalam salep.<sup>12</sup>

## Induksi Hiperglikemia pada Tikus

Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16-18 jam. Kadar glukosa darah puasa normal diukur secara kuantitatif. Kemudian, larutan aloksan monohidrat disuntikan secara intraperitoneal dengan dosis 155 mg/kgBB. Penyuntikan dilakukan pada semua kelompok. Pada hari ke-3 (2x24 jam setelah penyuntikan) glukosa darah puasa tikus diukur untuk melihat hasil induksi. Tikus dinyatakan hiperglikemia jika kadar glukosa darah puasanya  $\geq 150$  mg/dL. Pada hari ke-7 pengamatan luka kadar glukosa darah tikus diukur kembali. Hal ini bertujuan untuk mengetahui dan memastikan bahwa tikus mengalami hiperglikemia. Pengukuran kadar glukosa dilakukan melalui cuplikan darah vena ekor dengan menggunakan alat *Glukometer EasyTouch*®.<sup>23</sup>

## **Pembuatan Luka Eksisi**

Pembuatan luka eksisi pada tikus dilakukan menurut metode *Mortone and Malone* (1972), yaitu sebagai berikut:<sup>24</sup>

- 1) Tikus dicukur rambutnya di daerah punggung bagian atas
- 2) Pada saat akan dibuat luka, tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan dietil eter/kloroform.
- 3) Daerah punggung bagian atas dan sekitarnya dibersihkan dengan providone iodine kemudian alkohol 70%.
- 4) Setelah itu dibuat luka berbentuk lingkaran dengan dengan luas  $\pm 150 \text{ mm}^2$  dan kedalaman 2 mm, dengan cara mengangkat kulit dengan pinset dan gunting kulit menggunakan gunting bedah hingga bagian subkutis, yaitu hingga bagian dermis beserta jaringan ikat.
- 5) Pembuatan luka eksisi dilakukan sehari setelah pengukuran GDP hari ke-3 pasca induksi.

## **Uji Efek Penyembuhan Luka**

Uji efek penyembuhan luka dilakukan terhadap 25 ekor tikus yang terbagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok I (kontrol positif) diberi salep komersial Sanoskin Melladerm Plus<sup>®</sup>, kelompok II (kontrol negatif) diberi salep plasebo (F0), kelompok III diberi salep dengan ekstrak herba pegagan 1,5%, kelompok IV diberi salep dengan ekstrak daun bangun-bangun 5% (F1 dan F2), sedangkan kelompok V diberi salep kombinasi ekstrak herba pegagan dan daun bangun-bangun sesuai dengan perbandingan konsentrasi optimum (F3). Konsentrasi optimum didapat dari hasil optimasi uji efektivitas ekstrak.

Pemberian salep dilakukan secara topikal dengan cara mengoleskannya di bagian luka pada tikus perlakuan menggunakan *cotton bud* steril setiap hari, dari hari ke-1 sampai hari ke-7 setelah perlakuan sebanyak 2 kali sehari pada waktu pagi dan sore hari. Untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka dilakukan dengan menjaga kebersihan kandang baik sebelum

dan selama perlakuan. Luka juga akan dibersihkan satu kali sehari menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,9%.

Pengamatan dilakukan terhadap luas luka atau persentase penyembuhan luka. Luas luka diamati dengan cara mengukur rata-rata diameter luka pada arah vertikal, horizontal dan kedua diagonal.

Luas luka yang dinilai adalah:  $A = \pi r^2 = \pi \times \left(\frac{1}{2}d\right)^2 = 0,7854 d^2$

Persentase penyembuhan luka dihitung dengan rumus:  $\frac{d1^2 - d2^2}{d1^2} \times 100\%$

Dimana  $d$  adalah diameter rata-rata,  $d1$  adalah diameter luka sehari setelah dibuat dan  $d2$  adalah diameter luka pada hari dilakukan pengamatan

## Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan keterangan lolos kaji etik (*ethical approval*) dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dengan nomor 328/UN22.9/DT/2014.

## HASIL

### Hasil Ekstraksi

Tabel 2. Hasil Pembuatan Ekstrak

No.	Simplisia	Berat (gr)	Pelarut	Maserat (L)	Ekstrak (gr)	Rendemen(%)
1	Daun Bangun-bangun	650	n-heksana	5,75	37,278	5,74%
2	Herba Pegagan	1000	Etanol 70%	4,05	63,74	20,78%

Hasil pengujian susut pengeringan diperoleh kadar air ekstrak daun *Coleus amboinicus* L. sebesar 4,93% dan ekstrak herba pegagan sebesar 24,63%.

## Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak *Centella asiatica* (L.) Urban

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Triterpenoid	CH <sub>3</sub> COOH glasial, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Pekat	+	Terbentuk cincin merah
2	Flavonoid	Mg, HCl	+	Terbentuk warna merah
3	Tanin	FeCl 1%	+	Terbentuk warna coklat kehijauan
4	Alkaloid	Mayer	+	Terbentuk endapan putih
5	Saponin	Aquades	+	Terbentuk busa

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak *Coleus amboinicus* L.

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Triterpenoid	CH <sub>3</sub> COOH glasial, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Pekat	+	Terbentuk cincin merah
2	Flavonoid	Mg, HCl	+	Terbentuk warna merah
3	Tanin	FeCl 3%	+	Terbentuk warna biru kehitaman
4	Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
5	Saponin	Aquades	-	Tidak terbentuk busa
6	Minyak Atsiri	Etanol	+	Tercium bau khas setelah pelarut diuapkan

Keterangan: (+) Positif, (-) Negatif

## Hasil Formulasi Salep

Hasil optimasi variasi konsentrasi kombinasi ekstrak pada uji pendahuluan didapatkan konsentrasi pegagan 1,5% dan bangun-bangun 5% merupakan konsentrasi optimum. Konsentrasi inilah yang diformulasikan dalam formula III. Hasil formulasi didapatkan formula I, II, III dan plasebo dengan kondisi yang baik dan homogen (tabel 6).

Tabel 5. Hasil Uji Organoleptis Sediaan Salep

No.	Pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III	Plasebo
1	Bentuk sediaan	Setengah padat	Setengah padat	Setengah padat	Setengah padat
2	Warna	kecoklatan	Hijau pekat	Hijau kehitaman	Putih
3	Bau	Bau khas pegagan	Bau khas bangun-bangun	Bau khas bangun-bangun	Bau khas vaseline
4	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Berdasarkan uji organoleptis menunjukkan hasil yang stabil selama 7 hari uji, yaitu tidak mengalami perubahan dari hari pertama hingga hari terakhir perlakuan pada hewan uji.

## Hasil Induksi Hiperglikemia pada Tikus

Tabel 6. Kadar Glukosa Darah Puasa Rata-rata (mg/dL)

Kelompok	Glukosa darah puasa (mean $\pm$ SD)		
	GDP <sub>0</sub>	GDP <sub>1</sub>	GDP <sub>2</sub>
Kontrol (+)	114,6 $\pm$ 4,83	338,6 $\pm$ 129,30	173,6 $\pm$ 22,05
Kontrol (-)	105,2 $\pm$ 10,64	486,4 $\pm$ 126,81	215,0 $\pm$ 85,89
Dosis I	101,6 $\pm$ 23,55	390,2 $\pm$ 135,31	193,2 $\pm$ 37,63
Dosis II	110,0 $\pm$ 15,98	393,0 $\pm$ 171,71	194,0 $\pm$ 41,73
Dosis III	106,2 $\pm$ 17,71	376,8 $\pm$ 173,12	214,0 $\pm$ 81,64

Keterangan: Kontrol (+)= kontrol positif, kontrol (-) = kontrol negatif, GDP<sub>0</sub>= Glukosa darah puasa sebelum induksi, GDP<sub>1</sub>=Glukosa darah puasa pasca induksi, GDP<sub>2</sub>= glukosa darah puasa hari ke-7 pengamatan luka

## Hasil Uji Efek Penyembuhan Luka

Salah satu cara untuk mengetahui efek penyembuhan luka adalah dengan melakukan pengamatan dan pengukuran luas luka secara kuantitatif selama 7 hari berturut-turut. Hasil pengukuran diameter dirata-ratakan dan kemudian dihitung luasnya berdasarkan luas lingkaran. Hasil pengukuran luas luka pada hari ke-1 hingga ke-7 dibandingkan dengan luas luka awal (hari ke-0) untuk melihat persentase penyembuhan luka. Berikut tabel 10 merupakan rerata hasil perhitungan persentase penyembuhan luka selama 7 hari pengamatan.

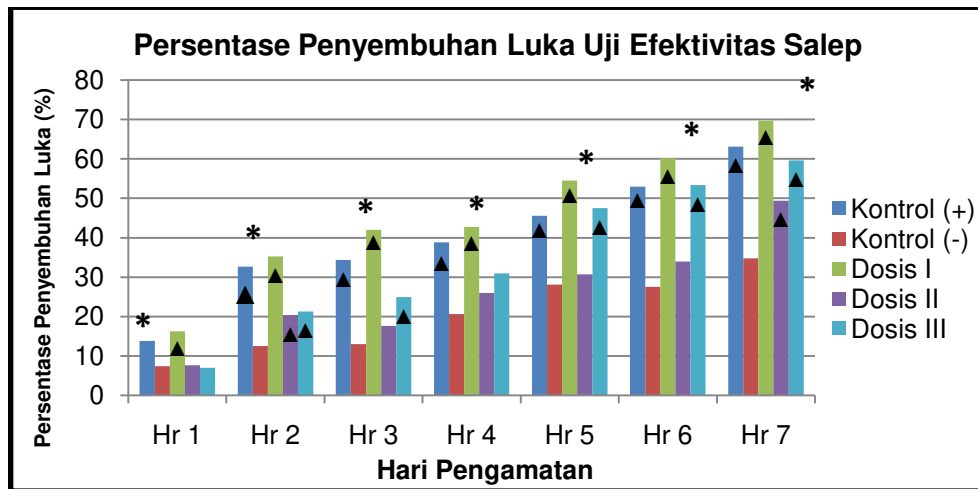
Tabel 7. Persentase Penyembuhan Luka Rata-rata Selama 7 Hari Pengamatan (%)

Hari ke-	Persentase penyembuhan luka (mean $\pm$ SD)				
	K (+)	K (-)	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	13,84 $\pm$ 5,51	7,37 $\pm$ 6,46	16,23 $\pm$ 6,67	7,66 $\pm$ 1,36	6,99 $\pm$ 1,64
2	32,62 $\pm$ 7,68	12,49 $\pm$ 1,91	35,26 $\pm$ 9,15	20,38 $\pm$ 5,57	21,30 $\pm$ 2,03
3	34,32 $\pm$ 8,93	13,01 $\pm$ 4,30	42,00 $\pm$ 10,48	17,62 $\pm$ 8,37	24,94 $\pm$ 10,35
4	38,80 $\pm$ 7,60	20,63 $\pm$ 8,29	42,703 $\pm$ 14,15	25,97 $\pm$ 12,68	30,93 $\pm$ 10,05
5	45,60 $\pm$ 9,62	28,09 $\pm$ 5,30	54,50 $\pm$ 15,91	30,74 $\pm$ 16,69	47,51 $\pm$ 3,41
6	52,97 $\pm$ 11,36	27,56 $\pm$ 7,67	60,21 $\pm$ 15,62	33,95 $\pm$ 11,53	53,33 $\pm$ 4,37
7	63,13 $\pm$ 11,12	34,78 $\pm$ 4,64	69,68 $\pm$ 7,67	49,39 $\pm$ 3,18	59,64 $\pm$ 5,15

Keterangan: K (+) = kontrol positif (Salep Sanoskin Melladerm Plus<sup>®</sup>), K (-) = kontrol negatif (Salep plasebo), Dosis I = salep pegagan 1,5%, Dosis II = salep bangun-bangun 5%, Dosis III = Salep kombinasi pegagan 1,5% dan bangun-bangun 5%.

Berdasarkan data pengamatan, dapat dilihat bahwa proses penyembuhan luka mulai terjadi dari hari ke-1 hingga hari ke-7 dengan kecepatan penyembuhan yang berbeda tiap-tiap kelompok. Hal ini ditandai dengan peningkatan rerata persentase penyembuhan luka pada setiap hari

pengamatan. Data rata-rata persentase penyembuhan luka kemudian disajikan dalam bentuk grafik batang seperti gambar 1.



Gambar 1. Persentase penyembuhan luka rata-rata selama 7 hari pengamatan (\*ANOVA  $p < 0.05$ , ▲LSD  $p < 0.05$ ). [▲=berbeda signifikan dengan kontrol (-)]

Data rata-rata persentase penyembuhan luka menunjukkan bahwa mulai hari ke-1 hingga hari ke-7 peningkatan persentase penyembuhan luka pada kelompok yang diberi bahan uji dengan bahan aktif lebih besar daripada kelompok kontrol negatif yang hanya diberi salep plasebo (tanpa bahan aktif). Dari grafik pada gambar 1 terlihat bahwa kelompok dosis I dan kelompok kontrol positif, menunjukkan rata-rata persentase penyembuhan luka yang paling tinggi bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain yaitu mencapai 69,68% dan 63,13% pada hari ke-7 pengamatan luka. Hal ini menunjukkan bahwa salep pegagan dan salep komersil memberikan efek penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan salep bangun-bangun, salep kombinasi pegagan dan bangun-bangun maupun salep plasebo.

Data hasil perhitungan persentase penyembuhan luka kemudian dilakukan uji statistik untuk melihat kelompok perlakuan mana yang memberikan efek penyembuhan luka yang paling baik. Hasil uji *One-Way* ANOVA didapatkan nilai  $p < 0.05$  yang menunjukkan paling tidak terdapat 2

kelompok yang memiliki perbedaan bermakna pada masing-masing hari pengamatan.

Berdasarkan hasil analisis LSD dari hari ke-1 hingga hari ke-7 secara keseluruhan didapatkan bahwa kelompok dosis II memberikan efek penyembuhan luka yang berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok dosis II, dosis III dan kontrol negatif. Namun, tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menggambarkan bahwa salep pegagan mempunyai efek penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan salep bangun-bangun maupun salep kombinasi, serta sama baik dengan salep komersil.

## **PEMBAHASAN**

### **Induksi Hiperglikemia**

Pengondisian hiperglikemia pada tikus dilakukan dengan induksi aloksan monohidrat. Dosis aloksan yang digunakan adalah 31mg/200gBB tikus per intraperitoneal. Aloksan monohidrat dilarutkan dalam larutan isotonis NaCl 0,9% dingin dan segera disuntikkan setelah aloksan larut. Induksi aloksan dilakukan pada kondisi tikus dipuasakan untuk mendapatkan efek hiperglikemia yang optimal.<sup>25</sup>

Pada hari ke-3 (2x24 jam) pasca penyuntikan aloksan menunjukkan kadar glukosa darah rata-rata diatas 200 mg/dL (rentang normal glukosa darah puasa tikus adalah 71 – 135 mg/dL). Hasil pengukuran menandakan tikus dalam kondisi hiperglikemia. Timbulnya kondisi hiperglikemia ini disebabkan oleh kerusakan selektif pada sel  $\beta$  pankreas, sel penghasil insulin pada tikus.<sup>26</sup>

Mekanisme terjadinya kerusakan pada sel pulau pankreas ini disebabkan oleh aloksan yang bereaksi dengan dua gugus dari kelompok *sulphydryl* (-SH) pada *binding site* glukosa dari glukokinase sehingga menghasilkan ikatan disulfida dan menginaktivasi enzim. Akibatnya, terbentuk asam dialurik yang pada akhirnya menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS)

dan radikal superoksida dalam siklus redoks. ROS ini sendiri kemudian mempunyai efek terhadap DNA sel beta pankreas. Akibat terpapar aloksan stimulasi poly ADP-ribosilasi yang berperan dalam perbaikan DNA terganggu sehingga proses fragmentasi DNA yang terjadi di sel beta pankreas juga terganggu. Mekanisme lain yang menyebabkan hiperglikemia pada tikus adalah terganggunya homeostasis kalsium intraseluler. Aloksan mampu menaikkan konsentrasi kalsium bebas ( $\text{Ca}^{2+}$ ) sistolik dalam sel beta pankreas. Influx kalsium ini disebabkan kemampuan aloksan mendepolarisasi sel beta pankreas untuk membuka kanal kalsium tergantung voltasi (*voltage dependent calcium channels*) dan meningkatkan masuknya kalsium ke sel beta pankreas. Peningkatan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  lebih jauh menyebabkan kondisi suprafisiologis dalam melepaskan insulin yang bersama dengan ROS dicatat pada akhirnya sebagai penyebab kerusakan sel beta pankreas.<sup>26</sup>

Pada hari ke-7 pengamatan luka, kadar glukosa darah tikus kembali diukur untuk mengetahui apakah tikus masih dalam kondisi hiperglikemia atau tidak. Pada hari ke-7 kadar glukosa darah puasa tikus pada masing-masing kelompok masih diatas 150 mg/dl yang menunjukkan kondisi hiperglikemia namun mengalami penurunan jika dibandingkan glukosa pasca induksi. Hal ini dapat dijelaskan karena aloksan merusak sel  $\beta$  pankreas dengan derajat kerusakan yang berbeda-beda sehingga tidak semua sel  $\beta$  pankreas mengalami kerusakan dan adanya kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk melakukan regenerasi. Akibatnya, sel  $\beta$  pancreas masih bisa menghasilkan insulin yang dapat menstimulasi transpor glukosa dari darah ke otot dan jaringan adiposa sehingga glukosa darah menurun.<sup>27,28</sup>

### **Uji Efek Penyembuhan Luka**

Penyembuhan luka adalah proses perbaikan jaringan untuk mendekati kondisi senormal mungkin dengan kondisi awal jaringan. Proses ini tergantung dari kemampuan jaringan memperbaiki diri, tipe dan luas kerusakan serta kondisi umum dari jaringan.<sup>29</sup> Penyembuhan luka



merupakan proses yang kompleks. Penyembuhan luka dikarakteristikan secara umum oleh 3 fase, yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodeling.<sup>7,30</sup>

Penyembuhan luka pada kondisi diabetes sedikit berbeda, multifaktorial, kompleks dan saling terkait. Gangguan penyembuhan luka pada kondisi diabetes diduga karena gangguan aliran darah dan oksigenasi akibat meningkatnya kadar glukosa darah, menurunnya sintesis kolagen dan fibronektin, dan menurunnya aktivitas anabolik akibat penurunan kadar insulin dan hormon pertumbuhan. Terdapat lebih dari 100 faktor fisiologis yang diketahui berperan dalam defisiensi penyembuhan luka pada individu dengan diabetes. Faktor-faktor ini meliputi penurunan atau terjadi gangguan pada produksi faktor pertumbuhan, respon angiogenesis, fungsi makrofag, akumulasi kolagen, fungsi barier epidermal, jumlah jaringan granulasi, migrasi keratinosit dan fibroblas, proliferasi, akumulasi matrik ekstraseluler, dan remodeling.<sup>7,31</sup> Tujuan penyembuhan luka pada kondisi diabetes adalah untuk mempercepat proses penutupan luka dengan menstimulasi faktor-faktor pertumbuhan sehingga mampu berfungsi normal.<sup>32</sup>

Kolagen memegang peranan penting dalam penyembuhan luka dan merupakan komponen utama jaringan ikat yang menyediakan komponen struktural untuk regenerasi jaringan. *Transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) merupakan faktor pertumbuhan penting yang mengatur fungsi-fungsi seluler pada semua fase penyembuhan luka. TGF-  $\beta$ 1 diproduksi oleh fibroblas sebagai sitokin yang berfungsi dalam banyak aksi terhadap sel dan meningkatkan pembentukan jaringan granulasi dan jaringan kolagen dalam proses penyembuhan luka. TGF-  $\beta$ 1 juga mendorong terjadinya kontraksi luka.<sup>32</sup>

Penilaian efektivitas pemberian sediaan salep pada masing-masing perlakuan berdasarkan nilai persentase penyembuhan luka rata-rata, waktu yang dibutuhkan untuk mencapai persentase penyembuhan luka

hingga 50% dari luka awal, dan onset pertama saat sediaan salep menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol negatif.

Data persentase penyembuhan luka rata-rata didapatkan bahwa kelompok kontrol positif dan kelompok dosis I menunjukkan nilai rata-rata paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis II maupun III. Jika dibandingkan waktu yang dibutuhkan masing-masing sediaan salep untuk mencapai penyembuhan luka hingga 50%, didapatkan bahwa kelompok dosis I sudah mencapai persentase penyembuhan luka >50% pada hari ke-5, sedangkan kelompok kontrol positif dan kelompok dosis III pada hari ke-6, dan kelompok dosis II pada hari ke-7. Hasil uji statistik juga didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis I pada hari ke-1 pengamatan luka. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok dosis I menunjukkan onset penyembuhan luka yang lebih cepat dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya yang justru memberikan onset penyembuhannya mulai hari ke-2. Berdasarkan penilaian di atas dapat dilihat bahwa kelompok dosis I memberikan efektivitas penyembuhan luka yang lebih baik jika dibandingkan dengan kelompok dosis III. Hal ini juga terlihat dari nilai uji statistik LSD antara kelompok dosis I dengan kelompok perlakuan lain dari hari ke-1 hingga hari ke-7.

Berkurangnya efektivitas salep kombinasi dibandingkan dengan salep pegagan diduga dipengaruhi oleh beberapa hal seperti pengaruh sediaan (pembawa) obat yang dalam hal ini basis salep yang digunakan terhadap pelepasan bahan aktif ekstrak (afinitas obat dalam pembawa), adanya interaksi antara senyawa aktif antara kedua ekstrak ketika diformulasikan dalam suatu sediaan yang sama (sifat agonis dan antagonis senyawa aktif) dan kadar glukosa darah tikus pada masing-masing tikus dengan variasi kadar yang cukup sulit untuk dikontrol. Sedangkan faktor lain yang mempengaruhi efektivitas obat dalam penyembuhan luka (absorpsi per kutan) seperti konsentrasi obat, luas area pemakaian, hidrasi kulit, perlakuan terhadap kulit, stratum corneum, lama pemakaian, pemakaian

berulang, dan pori dapat dikendalikan dalam penelitian ini artinya faktor-faktor ini sama pada semua tikus pada kelompok perlakuan.

Pengobatan dengan menggunakan salep akan lebih efektif apabila obat dapat lepas dari basisnya, tipe basis berminyak yang bersifat lipofilik mempunyai afinitas lebih lemah. Afinitas lemah memudahkan zat aktif terlepas dari basisnya, sehingga mudah untuk berdifusi ke dalam media. Sediaan salep dalam penelitian ini berbasis minyak (hidrokarbon). Salep pegagan lebih mudah melepaskan ekstrak herba pegagan. Ini disebabkan karena zat aktif dari herba pegagan adalah asiatikosida, yang merupakan senyawa yang bersifat hidrofil sedangkan basis salep bersifat lipofil.<sup>12</sup> Sedangkan minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak bangun-bangun bersifat lipofil sehingga mempersulit bahan aktif lain untuk lepas dari basis salep yang juga bersifat lipofil. Hal ini terlihat dari persentase penyembuhan luka kelompok dosis II paling kecil bila dibandingkan dengan kelompok dosis I dan dosis III. Namun, karena kandungan senyawa aktif yang ada dalam bangun-bangun bukan hanya minyak atsiri, maka salep kombinasi yang terdiri dari ekstrak pegagan dan bangun-bangun tetap memberikan efek penyembuhan luka yang lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol negatif maupun dosis II.

Terjadi interaksi antar senyawa aktif dari kedua ekstrak ketika diformulasikan dimana ekstrak yang satu mengurangi efektivitas ekstrak yang yang lain diduga karena terdapat senyawa metabolit yang berperan sebagai senyawa agonis dan senyawa antagonis. Senyawa agonis ini jika berikatan dengan reseptor dapat menimbulkan efek farmakologik, sedangkan senyawa antagonis ketika menduduki reseptor yang sama tidak mampu secara intrinsik menimbulkan efek farmakologik. Senyawa antagonis ini mampu menghalangi ikatan reseptor dengan agonisnya sehingga terjadi hambatan kerja agonis.<sup>33</sup> Namun, karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar yang terdiri dari berbagai macam metabolit sekunder, sehingga tidak diketahui secara pasti senyawa

metabolit mana yang berperan dan berinteraksi, sehingga hal ini tentunya harus dibuktikan dengan penelitian yang lebih lanjut.<sup>29</sup>

Efek penyembuhan luka yang ditimbulkan oleh kombinasi ekstrak pegagan dan bangun-bangun diduga karena senyawa-senyawa yang terkandung dalam kedua tanaman tersebut (tabel 5 dan 6). Triterpenoid, flavonoid, tanin dan saponin diketahui mempunyai efek terhadap penyembuhan luka melalui mekanisme yang berbeda-beda. Flavonoid dikenal sebagai senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas sehingga mampu mereduksi lipid peroksidasi dengan tidak hanya mencegah atau memperlambat nekrosis sel tetapi juga memperbaiki vaskularisasi. Semua obat yang mampu menghambat peroksidasi lipid dipercaya mampu meningkatkan kelangsungan kolagen fibril dengan meningkatkan kekuatan serat kolagen, meningkatkan sirkulasi, mencegah kerusakan sel dan merangsang sintesis DNA. Flavonoid dan triterpenoid juga diketahui mampu mempercepat proses penyembuhan luka berdasarkan kandungan astrigen dan antimikroba yang terlihat bertanggungjawab atas kontraksi luka dan meningkatkan epitelisasi. Senyawa tanin dalam penyembuhan luka juga diperankan kandungan astrigen dan senyawa antimikroba yang juga bertanggungjawab atas kontraksi luka dan epitelisasi. Saponin dikenal mempercepat proses penyembuhan dikaitkan dengan aktivitas antioksidan dan antimikrobanya.<sup>28,32</sup> Minyak atsiri sendiri merupakan senyawa aktif sebagai antimikroba sehingga berperan penting dalam pencegahan infeksi.<sup>35</sup>

Efek penyembuhan luka oleh salep pegagan juga diperankan oleh senyawa asiatikosida dan madekassosida.<sup>36,37,38</sup> Asiatikosida dan madekassosida dapat meningkatkan sintesis kolagen melalui aktivasi jalur TGF- $\beta$  secara *in vitro*. Senyawa-senyawa ini juga mampu meningkatkan ekspresi mRNA TGF- $\beta$ 1 pada fibroblas kulit. Melalui stimulasi TGF- $\beta$ 1, fibroblas berproliferasi dan menyekresi matriks ekstraseluler, terutama kolagen tipe I dan tipe III dan sebagian berdiferensiasi menjadi

miofibroblas yang mempercepat penutupan luka melalui kontraksi. Senyawa madekassosida diketahui secara signifikan meningkatkan ekspresi mRNA TIMP-1 yang mempengaruhi deposisi matriks ekstraseluler.<sup>39</sup>

Penelitian ini menunjukkan bahwa sediaan obat dengan kombinasi dua atau lebih bahan aktif dari dua tanaman yang berbeda tidak selalu memberikan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan sediaan yang hanya mengandung bahan aktif dari satu tanaman saja. Penelitian sebelumnya oleh Pirbalouti et al. (2010) yang meneliti efek penyembuhan luka diabetes pada kombinasi dua spesies tanaman juga menemukan bahwa sediaan salep dengan kombinasi dua tanaman tidak menunjukkan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan efek yang ditimbulkan oleh salep dengan ekstrak tunggal.<sup>40</sup>

## **KESIMPULAN**

Salep dengan ekstrak tunggal herba pegagan 1,5% memberikan efek penyembuhan lebih efektif dibandingkan dengan salep kombinasi ekstrak herba pegagan 1,5% dan ekstrak daun bangun-bangun 5% dan salep komersil terhadap luka eksisi pada tikus hiperglikemia.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menilai aktivitas penyembuhan luka berdasarkan analisis hidroksiprolin dan secara histopatologi dan melakukan penelitian kembali dengan meningkatkan rentang konsentrasi ekstrak pegagan yang diformulasikan dalam sediaan salep.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI). Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2011. PERKENI. 2011
2. Shaw, J.E; R.A Sicree; P.Z. Zimeet. Diabetes Atlas: Global Estimates of the Prevalence of Diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Reasearch and Clinical Practice*, 2010; 87: 4-14

3. Wild, Sarah; Gojka Roglic; Anders Green; Richard Sicree. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for The Year 2000 and Projection for 2030. *Diabetes Care*. 2004; 27(5): 1047-1053
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Depkes RI; 2007
5. Hastuti, Rini Tri. Faktor-Faktor Risiko Ulkus Diabetes pada Penderita Diabetes Mellitus (Studi Kasus Di RSUD Dr. Moewardi Surakarta). Semarang: Universitas Diponegoro, Program Studi Magister Epidemiologi, Program Pasca Sarjana; 2008 (Tesis)
6. Mc Kay and Miller. Review: Nutritional Support for Wound Healing. *Alternative Medicine Review*. 2003; 8(4): 359-377
7. Nayak B.S, Lexley P, Dale M. Wound Healing Activity of *Carica papaya* L. In Experimentally Induced Diabetic Rats. *Indian J Exp Biol*. 2007; 45: 739-743
8. Frykberg R.G, Thomas Z, David G.A. Diabetic Foot Disorders: A Clinical Practice Guideline (2006 revision). *The Journal of Foot & Ankle Surgery*, 2006; 45(5): 1-66.
9. Frykberg RG. Diabetic Foot Ulcers: Pathogenesis and Management, *Fam Physician*, 2002; 66(9): 1655-1662
10. Logeeswari K, and Shubashini K.S. Wound Healing Medicinal Plants: A Review. *ijCEPr*. 2012; 3(3): 199-218
11. Kumar S, Vinjaya. Studies On Wound Healing and Related Activities Of Aqueous Extract of *Coleus amboinicus*. Tumkur: Department of Pharmacology, Sree Siddaganga Collage of Pharmacy; 2005 (Disertasi)
12. Moerfiah, Muztabadihardja, Santi P.D. Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) untuk Penyembuhan Luka pada Mencit Jantan (*Mus musculus albinus*). *Fitofarmaka*. 2011; 1(1):17-23
13. Santosa, Christin M, Triana Hertiani. Kandungan Senyawa Kimia dan Efek Ekstrak Air daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) pada Aktivitas Fagositosis netrofil tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Majalah Farmasi Indonesia*. 2005; 16(3): 141-148
14. Lukhoba, Catherine W., Monique S.J. Simmonds, Alan J.Paton., *Plectranthus*: A Review of Ethnobotanical Uses. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006; 103: 1-24
15. Zheng, Chen Jian and Lu-ping Qin. Chemical Components of *Centella asiatica* and Their Bioactivities. *J Chin Integr Med*. 2007; 5(3): 348-351
16. Abdulla, M.A., F.H.Al-Bayat, L.T.Younis, M.I.Abu Hassan. Anti-ulcer Activity of *Centella asiatica* Leaf Extract Against Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. *J. Med. Plant. Res*. 2010; 4(13): 1253-1259.
17. Harborne, J.B. Metode Fitokimia Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Ed ke-2, Padmawinata, Kosasih; Iwang Soediro (alih bahasa), Mansoor, Sofia (ed), Bandung: Penerbit ITB; 2006

18. Pramono S dan D. Ajiastuti. Standardisasi Ekstrak Herba pegagan (*Centella asiatica*.(L.).Urban) Berdasarkan Kadar Asiatikosida Secara KLT-Densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2004; 15(3): 118-123
19. Gunawan Didik dan Sri Mulyani. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya; 2004
20. Korompis G, Vennetia R, Oksfriani J Sumampouw. Uji In Vitro Aktivitas Antibakteri dari *Lansium domesticum* Correa (Langsat). *Chem. Prog.* 2010; 3(1): 13-19
21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi Ke-3. Jakarta: Depkes RI; 1979
22. Indrayani Lany, Hartati Soetjipto, Lydia Sihasale. Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Berk.Penel.Hayati*. 2006; 12: 57-61
23. Etuk, E.U. Animal Model for Studying Diabetes Melitus. *Agric.Biol.J. N. Am.* 2010; 1(2):130-134
24. Morton, J.J.P. and Malone M.H. Evaluation of Vulnerary by An Open Wound Procedure in Rats. *Archieve Int Pharmacodyn*. 1972; 196: 117-128
25. Turner Patricia V, Thea Brabb, Cynthia P, Mary AV. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011; 50(5): 600–613
26. Rohilla Ankur and Shahjad Ali. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects, *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2012; 3(2): 819-823
27. Lenzen S. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia*. 2008; 51: 216–226
28. Singh Neera and Manushma Gupta. Regeneration of  $\beta$  Cells in Islets of Langerhans of Alloxan Diabetic Rats by Acetone Extract of *Momordica charantia* (Linn.) (bitter gourd) Fruits. *Indian J Exp Biol*. 2007; 45: 1055-1062
29. Nayak S, Poorna N, Steve S, Vidyasagar B, Andrew A. Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica*. L. And *Laurus nobilis*. L. extracts on rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2006; 6(12): 1-6
30. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Jornal of International Medical Research*. 2009; 37(5): 1528-1542
31. Brem Harold and Tomic Canic M. Cellular and Molecular Basis of Wound Healing in Diabetes. *J. Clin. Invest*. 2007; 117(5): 1219–1222
32. Huihui Liu, Shaohui Lin, Dan Xiao, Xiao Zheng, Yan Gu, Shanyu Guo., Evaluation of the Wound Healing Potential of *Resina Draconis*, (*Dracaena cochinchinensis*) in Animal Models. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 2013: 1-10
33. Dale MM, Rang, dan Maureen MD. *Rang & Dale's Pharmacology*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2007

34. Safwan Ali Khan, Mohammed et al. Wound healing potential of Leathery Murdah, *Terminalia coriacea* (Roxb.) Wight & Arn. *Phytopharmacology*. 2012; 3(1): 158-168
35. Santosa Christin M., Siti Isrina, Oktavia Salasia. The Effect of Bangun-Bangun Leaves (*Coleus amboinicus* L.) Water Extract on the rats Lymphocytes Activity. *Jurnal Sains Vet*. 2004; 22(2)
36. Shetty Somashekar and Sudhakar Pemmineti. Evaluation of *Centella Asiatica* Leaf Extract for Wound Healing in Sterptozotocin Induced Diabetic Rats. *RJPBCS*. 2013; 4(2): 1082-90
37. Rismana Eriawan, Idah Rosidah, Orasetywan Y, Olivia Bunga, Erna Y. Efektivitas Khasiat Pengobatan Luka Bakar Sediaan Gel Mengandung Fraksi Ekstrak Pegagan Berdasarkan Analisis Hidroksiprolin dan Histopatologi pada Kulit Kelinci. *Bul.Penelit.Kesehat*. 2013; 41(1): 45-60
38. Somboonwong J, Mattana K, Boonyong T, Mayuree H.T. Wound Healing Activities of Different Extracts of *Centella asiatica* in Incision and Burn Wound Models: An Experimental Animal Study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 12(103): 1-7
39. Fang Wu, Difei Bian, Yufeng Xia, Zhunan Gong, Qian Tan, Jiaojiao Chen, Yue Dai. Identification of Major Active Ingredients Responsible for Burn Wound Healing of *Centella asiatica* Herbs. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 2012: 1-13
40. Pirbalouti Abdollah G, Shahrzad A, Abed K, Behzad H. Wound Healing Activity Of *Malva Sylvestris* And *Punica Granatum* In Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. 2010; 67(5): 511-516